Aus dem Hygienischen Institut der Universität zu Marburg/Lahn
(Direktor: Professor Dr. W. Pfannenstiel)

Untersuchungen über das Vorkommen und die etwaige Pathogenität der Corynebakterien, der gramfreien Rachenkokken und der Streptokokken in Rachenabstrichen von 1750 Schulkindern

Mit 1 Abbildung im Text

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde

der Hohen Medizinischen Fakultät

der Universität Marburg

vorgelegt von

Carola Stein
aus Dahlerau/Wupper

Marburg, im Juli 1933
Verlag Gustav Fischer, Jena

Aus dem Hygienischen Institut der Universität zu Marburg/Lahn
(Direktor: Professor Dr. W. Pfannenstiel)

Untersuchungen über das Vorkommen und die etwaige Pathogenität der Corynebakterien, der gramfreien Rachenkokken und der Streptokokken in Rachenabstrichen von 1750 Schulkindern

Mit 1 Abbildung im Text

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde

der Hohen Medizinischen Fakultät

der Universität Marburg

vorgelegt von

Carola Stein
aus Dahlerau/Wupper

Marburg, im Juli 1933
Verlag Gustav Fischer, Jena

Angenommen von der Medizinischen Fakultät am 28. 7. 33.

Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät.

Referent: Professor Dr. W. Pfannenstiel.

R. UNIV
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Sonderabdruck aus dem
Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.
I. Abteilung. Originale.
1933, Bd. 130.
Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Für die Entstehung von Epidemien gehört als Vorbedingung, daß Krankheitserreger während der seuchenfreien Zeit in irgendeiner Form am Leben bleiben. Als Aufenthaltsort von Keimen, die für den Träger und dessen Umgebung meistens harmlos sind, unter besonderen Umweltbedingungen jedoch ihre ursprüngliche Pathogenität wiedererlangen können, muß vor allem die Mundhöhle angesehen werden. Es erscheint daher von Wichtigkeit, an einem größeren Menschenmaterial, wie es sich in den Schulen bietet, Untersuchungen anzustellen, inwieweit sich in Rachenabstrichen von gesunden Schulkindern pathogene bzw. in zur Zeit apathogene Formen abgewandelte Keime nachweisen lassen. Da Diphtherie, Meningitis epidemica und Streptokokken-Erkrankungen ihren Ausgang in der Hauptsache vom Nasen-Rachenraum aus nehmen, so habe ich meine Untersuchungen in erster Linie auf die Erreger dieser 3 Krankheiten sowie die jenen Erregern verwandten apathogenen Bakterienarten ausgedehnt.

Im Ablauf einer Diphtherie-Erkrankung werden in den vorher diphtheriepositiven Rachenabstrichen häufig Bazillen gefunden, die in einer Reihe von Merkmalen echten Diphtheriebazillen gleichen, in mancher Hinsicht aber auch an Pseudodiphtheriebazillen erinnern. Wenn man derartige Bazillen im Tiervirulenzversuch prüft, so erweisen sie sich oft noch als tierpathogen und damit als echte Diphtheriebazillen. Bei den in den letzten Jahren im Medizinaluntersuchungsamt in Marburg vorgenommenen Nachuntersuchungen eingesandter Abstriche von Diphtheriekranken sowie bei Umgebungsuntersuchungen auf Bazillenträger wurden mehrfach derartige Stämme gefunden. Die in einigen Fällen vorgenommene Virulenzprüfung ergab zuweilen das Vorhandensein einer deutlichen Tierpathogenität noch 7—14 Wochen nach Ablauf der Erkrankung (vgl. A. Beck).

In der überwiegenden Mehrzahl der Fälle werden jedoch diese Bazillen als avirulent befunden (Klinger und Schoch, Dudley, Pennington, Preidt u. a.). Diese Tatsache findet auch ihre Berücksichtigung in der gesetzlichen Regelung, die nach Ablauf von 8 Wochen schulpflichtigen Diphtheriebazillenträgern den Schulbesuch wieder erlaubt. Da beim Rekonvaleszenten der Befund derart atoxischer Bazillen, die den Pseudodiphtheriebazillen äußerst

ähnlich sehen, häufig ist, kann man an die Möglichkeit denken, daß es im Verlauf der Diphtherierekonvaleszenz zu einer Umwandlung der Diphtheriebazillen in pseudodiphtheriebazillenartige Formen kommt. Wenn aber die den Pseudodiphtheriebazillen gleichenden Keime nichts darstellen, als umgewandelte atoxisch gewordene Diphtheriebazillen, so wäre auch der rückläufige Weg dieser Umwandlung denkbar, also eine Rückverwandlung in virulente toxische Diphtheriebazillen.

Um über die Frage Aufschluß zu gewinnen, inwieweit ein derartiger Umwandlungsprozeß an der Erhaltung des Diphtherievirus in seuchenfreien Zeiten beteiligt ist, habe ich zunächst eine umfassende Durchuntersuchung sämtlicher Volksschulkinder Marburgs im Alter von 6—14 Jahren auf das Vorhandensein von Corynebakterien vorgenommen. Die herausgezüchteten Corynebakterienstämme wurden sämtlich auf ihre Tierpathogenität geprüft. Weiterhin habe ich untersucht, ob und wieweit eine Umwandlung der aus den Rachenabstrichen herausgezüchteten atoxischen Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen auf experimentellem Wege durch Züchtung auf hochprozentigen Blutnährböden oder durch Tierpassage in toxische Diphtheriebazillen möglich ist. Die Nähragarplatte mit hochprozentiger Blutbeimengung wurde verwandt, weil es Bruno Schneider durch Züchtung degenerierter und weitgehend Pseudodiphtheriebazillen ähnlich gewordener Diphtheriebazillen auf diesem Nährboden gelungen ist, sämtliche morphologischen und tierpathogenen Merkmale typischer echter Diphtheriebazillen zu regenerieren (vgl. auch B. Scharlau sowie Elisabeth Mansheim). Selbst Pseudodiphtheriebazillen sollen unter dem Einfluß hochprozentiger Blutnährböden eine wenigstens im morphologischen Bild zum Ausdruck kommende Annäherung an Diphtheriebazillen zeigen. Das Fortzüchten von Keimen in Tierpassagen, das bei sehr vielen Bakterienarten (z. B. Streptokokken) eine Virulenzsteigerung bewirkt, ist auch bei Pseudodiphtheriebazillen verschiedentlich versucht worden.

So berichten Knight und Hewlett über gelungene Umwandlungsversuche von Pseudodiphtherie- in Diphtheriebazillen mittels Tierpassage. Da damals (1897) die Differenzierungsmethoden noch nicht so ausgebaut waren, ist es nicht ausgeschlossen, daß die genannten Autoren nicht mit echten Pseudodiphtheriebazillen, sondern mit einer Diphtheriebazillenminusvariante gearbeitet haben. In diesem Zusammenhange wäre auf die Ergebnisse von Baerthlein hinzuweisen, der in einfachem Kulturverfahren aus einem avirulenten atypischen Diphtheriestamm eine schwachvirulente Diphtheriebazillenvariante abspalten konnte. Derselbe Einwand trifft auch für die Versuche von Roux und Yersin zu, die durch Einspritzung von Pseudodiphtheriebazillen-Streptokokken-Mischkulturen in den Tierkörper virulente Diphtheriebazillen erhalten konnten. Auch Trumpp, der durch kombinierte Injektion einer untertödlichen Diphtheriegiftdosis und eines Pseudodiphtheriestammes ein Virulentwerden von Pseudodiphtheriebazillen zu erzielen glaubte, macht über die Eigenschaften des Ausgangsstammes nur ungenaue Angaben. Die Arbeiten von Roux und Yersin und von Trumpp sind durch Möhrke nachgeprüft worden. Bei der Methode Roux und Yersin konnte er beim Meerschweinchen überhaupt keine Lokalreaktion feststellen und auch kulturell sowie morphologisch hatten sich die Bazillen gegenüber den Ausgangsstämmen nicht verändert. Nach der Methode Trumpps reagierten die Tiere mit geringem Infiltrat und Rötung sowie leichtem Kranksein, das nach einigen Tagen verschwand. Jedoch die aus dem Infiltrat gezüchteten Stämme ergaben keine Veränderung. Möhrke kommt nach seinen Versuchen zu dem Schluß, daß eine Identität der Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen abzulehnen ist, obgleich er die Wahrscheinlichkeit der Verwandtschaft, gestützt durch die epidemiologischen Betrachtungen, zugeben muß.

Da in den letzten 2 Jahren verschiedentlich Meningokokkenträger in der weiteren Umgebung Marburgs im Medizinaluntersuchungsamt festgestellt werden konnten, gaben die Untersuchungen der Abstriche auf Corynebakterien willkommenen Anlaß zur Prüfung, ob und welche gramfreien Rachenkokken sich in den Abstrichen der Schulkinder nachweisen lassen.

Schließlich habe ich bei diesem noch das Vorkommen hämolytischer Streptokokken in den Kreis meiner Untersuchungen einbezogen.

Eigene Untersuchungen.

Es wurden im ganzen 1750 Schulkinder untersucht, der größte Teil davon (1550) in den Monaten Dezember-Februar 1931/32. 200 von diesen Kindern habe ich nochmals während der Grippeepidemie des Jahres 1933 in den Monaten Januar-März nachuntersucht. Diese Nachuntersuchungen boten aufschlußreiche Vergleichsmöglichkeiten der Rachenflora in normalen und in Grippezeiten. Mit freundlicher Unterstützung der Marburger Schulärztin, Frau Dr. Bremer, konnte ich mein Untersuchungsmaterial dahin sichten, inwieweit Unterschiede der Rachenflora bei vollkommen gesunden Kindern und bei Kindern mit erhöhter Neigung zu Erkältungskrankheiten, die klinisch den Befund einer Hypertrophie der adenoiden Rachenorgane zeigten, zu finden waren.

Die Verarbeitung der Tupfer erfolgte sofort, spätestens 3 Std. nach dem Abstrich auf 10proz. Blutagarplatten, weil, wie Wohlfeil und Jaffe gezeigt haben, bei späterer Verarbeitung der Tupfer die Nachweismöglichkeit der Meningokokken herabgesetzt ist. Nach 24stünd. Aufenthalt im Brutschrank wurden von den Schmierplatten nach Gram und Neisser gefärbte Durchstrichpräparate angefertigt. Falls in dem mikroskopischen Präparat Bakterien gefunden wurden, die ihrem mikroskopischen Aussehen und ihrer Färbung nach einer der drei zu untersuchenden Bakteriengruppen angehörten, wurde eine Reinzüchtung sämtlicher verdächtiger Kolonienarten auf weiteren Blutagarplatten vorgenommen. Zur Spezifizierung der reingezüchteten Kolonien untersuchte ich das mikroskopische Bild, das biologische Verhalten und bei den Corynebakterien auch die pathogenen und serologischen Merkmale. Die zur Prüfung der jeweils in Betracht kommenden biologischen Eigenschaften benutzten Differentialnährböden werden bei der Besprechung der einzelnen Bakterienarten angeführt.

I. Untersuchungen auf Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen.

A. Häufigkeit des Vorkommens von Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen.

Die Feststellung dieser Keime erfolgte nach dem im Untersuchungsbetriebe üblichen Prüfungsgange, also mittels der mikroskopischen Durchsicht der nach Neisser und Gram gefärbten Durchstrichpräparate von der Schmierplatte. Die derart gefundenen Keime aus der Corynebakteriengruppe wurden auf 10proz. Blutagarplatten reingezüchtet. Zur Unterscheidung von Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen achtete ich vor allem auf das Verhalten der Stäbchen im mikroskopischen Präparat und auf das Aussehen ihrer Kulturen. Weiterhin wurde das Wachstum der Keime unter anaeroben Bedingungen in einem dem Knorrschen Anaerostaten ähnlichen Behälter geprüft, eine Untersuchung, die nach Kliewe, Burckhardt und Enriquez in den meisten Fällen eine zuverlässige Unterscheidung von Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen in einfacher Weise gestatten soll. Schließlich wurden noch sämtliche reingezüchteten Corynebakterienstämme einer Prüfung ihrer Tiervirulenz unterworfen. Diese nahm ich nach der von Gins angegebenen Intrakutanmethode vor. Die injizierte Bakterienmenge betrug eine Oese, die in 0,1 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt war. Ich wählte absichtlich diese hohe Dosis, um auch etwaige nur geringe Virulenzgrade der geprüften Bakterien nicht zu übersehen.

Bei diesen Untersuchungen wurden unter 1750 Abstrichen im ganzen 44 Corynebakterienstämme, die sämtlich avirulent waren, gefunden. Diese zeigten bis auf eine Ausnahme (Stamm 1131) sowohl morphologisch als auch

kulturell das typische Verhalten der Hofmann-Wellenhofschen Pseudodiphtheriebazillen. Es fanden sich stets kurze plumpe Stäbchen, ohne Polkörperfärbung und mit Neigung zur Parallellagerung. Die Kulturen auf der Blutplatte waren immer üppig, rahmig, weißen Aussehens und größer als die Kolonien echter Diphtheriebazillen.

Der Stamm 1131 entwickelte etwas zarteres Wachstum, vor allem aber unterschied er sich von den echten Pseudodiphtheriebazillen im mikroskopischen Präparat, in welchem schlanke Stäbchen mit sehr guter Polkörperfärbung in diphtherieähnlicher Lagerung festzustellen waren. Dieser Stamm zeigte auch hinsichtlich seiner anderen Merkmale wesentliche Abweichungen von den Eigenschaften typischer Pseudodiphtheriebazillen. Im Gegensatz zu diesen wuchs er unter anaeroben Bedingungen. Dagegen vermochte er nicht auf Natriumoleinicum-Agar zu wachsen. Weiterhin verhielt er sich auch hinsichtlich seiner Zuckervergärung, die in den van Riemsdijkschen Zuckerpeptonlösungen geprüft wurde, wie ein Diphtheriebazillus. Er vergor sogar noch außer der Dextrose, Maltose, Lävulose auch die Saccharose. Auch in seiner Säurebildung entsprach er den Diphtheriebazillen. Die Säurebildung in 5 ccm 1proz. Traubenzuckerbouillon betrug nach 6 Tagen 1,2 ccm n/10 Säure. Dagegen fehlte ihm eine wichtige Eigenschaft der echten Diphtheriebazillen: nämlich die Tierpathogenität. Er ist somit nach seinem Verhalten als eine Diphtherie-Minusplusvariante der Gruppe I d nach Kliewe zu bezeichnen.

Es kann also zusammengefaßt werden, daß sich in 2,51 Proz. der untersuchten 1750 Fälle Pseudodiphtheriebazillen vom Typ der Hofmann-Wellenhofschen Stäbchen fanden, und nur in einem Abstrich, also in 0,06 Proz. der Fälle ein Diphtheriebazillus reingezüchtet werden konnte, der jedoch atoxisch war. Der von mir gefundene Prozentsatz an Diphtheriebazillenträgern ist im Vergleich zu anderen Untersuchungen als sehr niedrig zu bezeichnen. So fand Markuse bei der Untersuchung von 102648 Verschickungskindern in 0,68 Proz. der Fälle Diphtheriebazillen, über deren Virulenz er keine Angaben macht. Kober stellte bei der Untersuchung von 60 normalen Schulkindern 0,83 Proz. von Diphtheriebazillenträgern fest. Bei Untersuchungen mit großem Zahlenmaterial fanden Beckler-Gillette-Parker unter 8383 Schulkindern 0,49 Proz. Bazillenträger, Doull bei 2350 Kindern 1,45 Proz., Doull-Fales unter 7800 Kindern 5,2 Proz. Bazillenträger. Im Gegensatz hierzu steht der von mir gefundene auffallend geringe Prozentsatz von 0,06 Proz. Diphtheriebazillenträgern. Vielleicht ist dieser Unterschied darauf zurückzuführen, daß Marburg in den letzten Jahren keine Diphtherieepidemien durchmachte.

Wie ich bereits oben erwähnt habe, wurden bei einem Teil der Kinder (200) die Rachenabstriche ein Jahr später während der Grippeepidemie 1933 wiederholt. Wenn auch die Zahl der hierbei untersuchten Fälle sehr viel geringer ist als die in Normalzeiten, so glaube ich dennoch, folgende mir bei den Grippeuntersuchungen auffallende Beobachtungen hier anführen zu dürfen. Bei 124 Untersuchungen, die während des Anstieges der Grippeepidemie, also in der Zeit von der letzten Januarwoche bis zur dritten Februarwoche (s. Grippekurve in Abbildung 1) ausgeführt wurden, fanden sich nie Stäbchen aus der Corynebakteriengruppe. Erst im Abflauen der Epidemie traten diese wieder auf. Das Verhalten der übrigen Rachenkeime im Anstieg und Abfall der Grippeepidemie wird bei Besprechung der einzelnen Bakterienarten beschrieben und die etwaigen Beziehungen der Corynebakterien zu der übrigen Rachenflora erörtert.

Der Vergleich der Häufigkeit des Corynebakterienbefundes bei Kindern mit und ohne Tonsillenhypertrophie ergibt bei den ersteren einen um 1,36 Proz. höheren Prozentsatz (s. Tabelle III). Dieser Unterschied ist jedoch zu gering,

um aus ihm den Schluß ziehen zu können, daß Corynebakterien bei der Tonsillenhypertrophie irgendeine Rolle spielen.

B. Virulenzsteigerungsversuche.

a) durch Passage auf hochprozentigen Blutagarplatten.

Die Versuche, bei den aus den Rachenabstrichen herausgezüchteten Corynebakterien durch geeignete künstliche Maßnahmen eine Virulenzsteigerung zu erzielen, nahm ich vor, um festzustellen, ob sich unter diesen vielleicht abgewandelte Typen befänden, welche gegebenenfalls zum Wiederausbruch einer Diphtherieepidemie Anlaß geben könnten.

Die Virulenzsteigerungsversuche auf hochprozentigen Blutagarplatten erfolgten in der Weise, daß ich sämtliche Pseudodiphtheriestämme in fünf 24stünd. Passagen auf 30proz. Hammelblutagarplatten weiterführte. Von der letzten Blutplattenkultur wurde je eine Oese in 0,1 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt intrakutan einem Meerschweinchen an der enthaarten Bauchseite eingespritzt. Bei einwöchentlicher Beobachtungsdauer der Tiere konnte weder bei einem der 44 geprüften Pseudodiphtherie-Bazillenstämme noch auch bei der obenerwähnten atoxischen Diphtheriebazillen-Minusplusvariante (1131) auch nur die geringste Tierpathogenität festgestellt werden. An den Einstichstellen war höchstens eine leichte Stichreaktion, manchmal auch eine ganz geringe flüchtige Infiltration zu beobachten, die wohl durch das eingeführte artfremde Bakterieneiweiß bedingt ist. Nie fand sich eine stärkere Rötung und Infiltration mit darauffolgender Nekrose, wie sie für Diphtheriebazillen oder deren Gift typisch ist. Zur Kontrolle wurden 2 Tiere in derselben Weise, aber mit viel kleineren Dosen ($^1/_{1000}$, $^1/_{100}$ Oese) einer virulenten Diphtheriebazillenkultur gespritzt. Diese zeigten an der Injektionsstelle der höheren Dosis die typische Kokardenreaktion. Bei den Passagezüchtungen ließen sämtliche geprüften 44 Stämme sowie der atoxische Diphtheriestamm 1131 bei der täglich vorgenommenen Kontrolle der Blutagarplattenkulturen keine Veränderungen ihres morphologischen Aussehens und ihres Kolonienwachstums erkennen.

b) durch Tierpassagen.

Die Virulenzsteigerunsversuche in Tierpassagen führte ich folgendermaßen durch: 6 Pseudodiphtheriestämme wurden in der oben beschriebenen Weise Meerschweinchen intrakutan verimpft und am darauffolgenden Tage die eingespritzten Keime von der mittels eines kleinen Messerschnittes eröffneten Injektionsstelle auf Blutagarplatten zurückübertragen. In Vorversuchen, bei denen ich denselben Stamm an 3 verschiedenen Stellen in die Bauchhaut eines Meerschweinchens injizierte und an jedem der darauffolgenden 3 Tage wieder aus der geöffneten Injektionsstelle herauszüchtete, stellte ich den ersten Tag nach der Einspritzung als den besten Zeitpunkt für die Wiederentnahme des eingespritzten Bakterienmaterials fest. In sämtlichen Fällen gelang es derart, aus der Injektionsstelle die Pseudodiphtheriebazillen wieder zu züchten, oft allerdings in Mischkulturen mit Staphylokokken. Die so gewonnenen Pseudodiphtheriestämme wurden reingezüchtet, was stets schon nach der ersten Passage gelang und dann erneut in der Dosis von einer Oese (in 0,1 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt) auf ein neues Tier intrakutan verimpft. In dieser Weise führte ich jeden Stamm in 5 Tierpassagen weiter. Wenn auch schon bei diesem beschriebenen Verfahren der intrakutanen Weiterverimpfung eine etwaige Virulenzsteigerung der geprüften Stämme feststellbar gewesen wäre, so habe ich dennoch nach der ersten, dritten und fünften Tier-

passage eine Virulenzprüfung der aus den Tieren herausgezüchteten Stämme nach der üblichen Methode des Diphtherietierversuches (subkutane Einspritzung von 3 Oesen einer 24stünd. Kultur in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung über dem Sternum) vorgenommen. Bei dieser Untersuchung konnte bei keinem der geprüften Stämme, auch nicht bei dem atypischen Diphtheriestamm 1131, ein Gewinn der Virulenz erzielt werden.

Es war also weder durch Fortzüchtung auf hochprozentigen Blutplatten noch durch Tierpassagen gelungen, einen Beweis für die Umwandelbarkeit von Pseudodiphtheriebazillen in Diphtheriebazillen zu erbringen. Ich komme also in dieser Frage zu demselben Ergebnis, zu dem auch Möhrke auf Grund experimenteller Untersuchungen gelangte.

In morphologischer Beziehung traten im Verlauf der Tierpassagen einige Veränderungen auf. So waren besonders nach der ersten Passage Polkörperchen einseitig, zuweilen auch doppelseitig festzustellen. In den späteren Passagen fiel ein Plumper- und Kürzerwerden der Stäbchen auf. Diese nahmen manchmal fast das Aussehen von Kokken an. Das üppige rahmig-weiße Kolonienwachstum erfuhr im Verlaufe der Fortzüchtung im Tierkörper keine Aenderung.

C. Serologische Vergleiche von Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen.

Ich habe auch noch untersucht, ob sich durch die Analyse der antigenen Eigenschaften etwaige Beziehungen der gefundenen Corynebakterien zu echten Diphtheriebazillen nachweisen lassen. Hierfür immunisierte ich 5 Kaninchen mit 3 Pseudodiphtheriebazillenstämmen und 2 echten Diphtheriebazillenstämmen (aus der Sammlung des Hygienischen Instituts). Die Immunisierung erfolgte in Abständen von 8 Tagen und mit steigenden Dosen ($^1/_{100}$, $^1/_{10}$, 1 und 10 Oesen aufgeschwemmt in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung) der durch 1stünd. Verweilen im Wasserbad bei 56° abgetöteten Loefflerserumkulturen. Um den Antikörpergehalt zu erhöhen, erhielten die Tiere 2 Tage vor der Entblutung ½ ccm sterile Milch intravenös (nach dem Verfahren, das Weichardt für andere, z. B. Typhus-Immunsera angegeben hat).

a) Agglutination.

Die meisten Autoren, welche einen serologischen Vergleich von Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen mittels der Agglutinationsreaktion (Lubowski, Schwoner, von Przewoski, van Riemsdijk, Möhrke, Kliewe) anstellten, kamen zu dem Schluß, daß sich diese beiden Bakteriengruppen serologisch voneinander trennen lassen. Eine nicht unwesentliche Schwierigkeit bei derartigen Versuchen ergibt sich jedoch aus dem keineswegs einheitlichen agglutinatorischen Verhalten der Diphtheriebazillen. So sind von verschiedenen Autoren durch Agglutinationsabsättigungsversuche eine ganze Reihe von Diphtheriegruppen unterschieden worden (Langer 2, Havens 2, Durand 4, Bell 3, Powell 8, Eagleton und Baxter 10, Scott 8 und Smith 7). Weiterhin wird das Ergebnis der agglutinatorischen Untersuchungen von Diphtherie und Pseudodiphtheriebazillen beeinträchtigt durch die wechselnde Agglutinierbarkeit ein und desselben Stammes zu verschiedenen Zeiten (Langer, Kliewe, Mansheim), eine Erscheinung, die auch ich beobachten konnte, sowie auch durch das sehr störende Auftreten einer Spontanagglutinabilität dieser Bazillen. Aus dem letztgenannten Grunde haben Schmitz sowie Mansheim ihre Versuche der agglutinatorischen Einteilung und Unterscheidung von Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen aufgegeben.

Auch ich hatte die größten Schwierigkeiten, ein geeignetes Antigen herzustellen. Nachdem sich eine feine Verreibung von Loefflerkulturen in einfacher Kochsalzlösung und ein 1stünd. Schütteln dieser Aufschwemmung als unzureichend erwiesen hatte, versuchte ich zuerst, das von van Riemsdijk empfohlene Verfahren der Antigenherstellung, das auch bei Kliewe sowie Möhrke zu brauchbaren Ergebnissen geführt haben soll.

24stünd. Loefflerserumkulturen wurden zur Erzielung einer möglichst homogenen Suspension sorgfältigst in 2 ccm Kochsalzlösung verrieben und die Aufschwemmung 2½ Std. bei 50° im Wasserbade erhitzt. Da dieses Verfahren in meinen Versuchen keine befriedigenden Resultate ergab, versuchte ich weiter, die von Lubowski empfohlene Vermischung der Bakterienaufschwemmung mit einem gleichen Volumen 10proz. Glyzerinlösung. Aber auch dieses Antigen zeigte noch eine starke Neigung zur Spontanverklumpung. Ferner versuchte ich durch dosierten Zusatz verschiedener den Nährboden beeinflussender Mittel die Spontanagglutination der darin gezüchteten Corynebakterien ohne Berücksichtigung von deren antigenen Eigenschaften zu verhindern. Zu diesem Zwecke versetzte ich unter sterilen Kautelen je 1 ccm einer gewöhnlichen Bouillon mit je ¼, ½, 1 ccm Glyzerin, Galle, gelöster Gelatine, $^1/_{10}$ normaler Salzsäure, n/10 Natronlauge und beimpfte die derart vorbehandelten Nährböden mit einer Oese einer 24stünd. Loefflerserumkultur. Die nach 24stünd. Bebrütung gewonnenen Kulturen dienten dann, nachdem sie 1 Std. lang in einem Schüttelapparat gründlich durchgeschüttelt worden waren, als Antigen.

Die Agglutinationsreaktion wurde in fallenden Serumverdünnungen, beginnend mit der Verdünnung 1/50 bis zur Verdünnung 1/3200 ausgeführt und nach 24stünd. Verweilen der Serum-Antigenmischung im Brutschrank mittels des Kuhn-Woitheschen Agglutinoskops abgelesen. Hierbei erwies sich das mit Glyzerin und Gelatine versetzte Antigen von vornherein als unbrauchbar. Der Gallezusatz von ½ ccm Galle ergab etwas bessere Resultate, die aber auch noch keineswegs befriedigend waren. Am verhältnismäßig günstigsten erwies sich das mit ¼ ccm n/10 Natronlauge versetzte Antigen.

In einer weiteren Versuchsreihe mit alkalisiertem Antigen suchte ich durch genauere Abstufung des Natronlaugenzusatzes den optimalen Alkalinitätsgrad zu ermitteln. Auf je 1 ccm einer gewöhnlichen Bouillon von p_H 7,8 wurden in stets um 0,05 ccm steigenden Mengen, beginnend mit 0,05 ccm bis 0,5 ccm n/10 Natronlauge zugefügt und die einzelnen Röhrchen mit einer Oese einer 24stünd. Loefflerserum-Diphtherie- bzw. Pseudodiphtheriekultur beimpft. Hierbei erwies sich das Röhrchen mit dem Zusatz von 0,05 ccm n/10 Natronlauge als das geeignetste. Aber auch hier trat die Spontanagglutinabilität zuweilen noch derartig störend auf, daß bei einem Teil der Stämme eine einwandfreie Ablesung des Agglutinationsergebnisses nicht möglich war. Bei den höheren Alkalidosen konnte ich wohl eine Verminderung der Spontanagglutinabilität feststellen, doch war in diesen Röhrchen auch die spezifische Agglutination derart herabgesetzt, daß die Beurteilung der Reaktion unsicher wurde. Der höchste in meinen Versuchen nachgewiesene Agglutinationstiter betrug 1 : 3200, der niedrigste 1 : 200.

b) Komplementbindung.

Wegen der eben geschilderten Schwierigkeiten habe ich auf die weitere Ausführung der Agglutinationsreaktion verzichtet und versucht, ob sich mittels der Komplementbindungsreaktion eine Unterscheidung zwischen Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen durchführen läßt.

Auch diese Reaktion ist verschiedentlich zur Trennung der oben genannten Bazillenarten versucht worden. So fanden Bull, McKee, Clara, Klinger-Schoch, Morse, daß Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen mit dem artgleichen Serum Komplement zu binden imstande sind, während die Kreuzungsreaktion mit heterologen Seren negativ verlief. Dagegen konnten Krah und Witebsky keinen Unterschied der alkohollöslichen Antigene der Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen feststellen. Mansheim erhielt bei ihren Diphtherieseren mit Diphtheriebazillenantigen keine Komplementbindung; von Przevoski fand dasselbe bei den Pseudodiphtheriebazillen.

Tabelle I.

Serumverdünnung	Diphtherie-							
	a) gegen Diphtheriesera							
	Serum 58	Serum 57						
	Diphtheriestamm							
	58	57	57	58	22 245	23 646	21 122	20 282
1:5	++	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
1:10	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
1:50	+	+++	++++	++++	0	0	0	0
1:100	+	++	0	0	0	0	0	0

Serumverdünnung	Pseudo-							
	a) gegen Pseudodiphtherieserum							
	Serum 413							
	Pseudodiphtheriestamm							
	413	566	1128	757	1400	1717	318	765
1:5	++++	++++	++++	±	++++	++++	++++	++++
1:10	++++	0	+++	0	++++	+++	+++	0
1:50	±	0	+++	0	±	0	0	0
1:100	±	0	+++	0	±	0	0	0

Für die Komplementbindungsreaktion versuchte ich zuerst die von Gundel und Witebsky für Streptokokken empfohlene Antigenherstellung, deren sich auch Beck in Komplementbindungsversuchen mit Streptokokken mit Erfolg bedient hat. Dieses Verfahren ist von Krah und Witebsky auch bei Diphtherie-, Pseudodiphtherie- und Tuberkelbazillen angewandt worden. Eine bei 57° im Wasserbad abgetötete Bouillonkultur wurde zentrifugiert, das Sediment mit 96proz. Alkohol im Verhältnis 1 : 20 verdünnt und unter mehrfachem Aufschütteln 3 Tage lang im Brutschrank belassen. Darauf wurde die Aufschwemmung filtriert und das Filtrat, welches ein alkoholisches Diphtheriebazillenextrakt darstellt, mit der sechsfachen Menge physiologischer Kochsalzlösung fraktioniert verdünnt. Zur Anstellung der Reaktion fügte ich zu 0,25 ccm der absteigenden Serumverdünnung (0,025, 0,015, 0,01, 0,005, 0,003, 0,002, 0,001, 0,006, 0,004, 0) je 0,25 ccm Bakterienextrakt und Komplement und nach 1stünd. Bindungszeit bei 37° 0,5 ccm des hämolytischen Systems hinzu. Bei diesen Versuchen zeigte jedoch das Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillenextrakt eine sehr störende Eigenhemmung, welche die Durchführung der beschriebenen Komplementbindungsversuche verhinderte.

Ich benutzte daher für meine weiteren Versuche ein Vollbakterienantigen, das ich mir durch Abschwemmung von Loefflerkulturen mit je 5 ccm Kochsalzlösung herstellte und 1 Std. lang im Wasserbad bei 57° erhitzte. Auch hierbei wurden absteigende Serumverdünnungen hergestellt. Die Reaktion selbst nahm ich nach der im Marburger Untersuchungsamt für die Meningokokken-Komplementbindung (nach Jötten) üblichen Weise vor. Zu 0,5 ccm absteigender Serumverdünnungen (1 : 5, 1 : 10, 1 : 50, 1 : 100) wurden je 0,5 ccm Komplement und 0,5 ccm Bakterienaufschwemmung bzw. in den 4 Serumkontrollröhrchen je 0,5 ccm Kochsalzlösung statt der Bakterienaufschwemmung zugefügt und nach einer Bindungszeit von wieder 1 Std. jedem Röhrchen 1 ccm hämolytisches System zugegeben. In jeder Versuchsreihe lief selbstverständlich

Komplementbindungsreaktionen.

stämme									
		b) gegen Pseudodiphtherieserum							
		Serum 413							
		Diphtheriestamm							
1297	741	57	58	22 245	23 646	21 122	20 282	1297	741
++++	++++	+++	+++	++++	+	++++	++++	++++	++++
++++	++++	++	+++	++	++	++++	+++	±	++
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

diphtheriestämme							
b) gegen Diphtherieserum							
Serum 57							
Pseudodiphtheriestamm							
413	566	1128	757	1400	1717	318	765
++++	++++	++++	++	++++	++++	++++	+++
++++	++	++++	+	++++	±	++++	++
++++	0	++	0	0	0	0	0
++++	0	+	0	0	0	0	0

eine einfache und doppelte Antigenkontrolle mit. Zwei Pseudodiphtherieseren zeigten in allen Versuchen eine nicht zu beseitigende Eigenhemmung, so daß ich diese Seren für meine weiteren Versuche ausschalten mußte. Zur Kontrolle der Spezifität der Diphtheriebazillen-Komplementbindung, die von Bessemans, de Potter und Deckers auf Grund der Ergebnisse ihrer Versuche mit verschiedenen Tierseren angezweifelt wird, prüfte ich noch 2 Normalsera von nicht immunisierten Kaninchen mit je einem Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen-Antigen. Hierbei war in keiner Verdünnung mit keinem der geprüften Antigene eine Komplementbindung nachweisbar.

Die Ergebnisse meiner Komplementbindungsversuche sind in Tabelle I wiedergegeben. Wenn man zunächst die Stärke der Komplementbindungsreaktion der Diphtheriebazillenstämme gegenüber den Diphtherieseren 58, 57 und dem Pseudodiphtherieserum 413 betrachtet, so ist ein geringer Unterschied zugunsten der homologen Reaktion (Diphtherieserum : Diphtheriebazillenstämmen) festzustellen. Während die untersuchten 8 Diphtheriebazillenstämme stets mindestens in den 2 ersten Serumverdünnungen eine komplette Hämolysehemmung zeigen, die oft auch noch in der dritten Verdünnung nachweisbar ist, zeigen dieselben Stämme gegenüber dem Pseudodiphtheriebazillenserum nur in der schwächsten Verdünnung eine gleich starke Reaktion; im zweiten Verdünnungsröhrchen ist die Hämolysehemmung schon sehr viel geringer und in der dritten Verdünnungsstufe zeigt sich stets eine vollständige Hämolyse.

Dagegen ist beim Vergleich der Reaktionsstärke der Pseudodiphtheriebazillen gegenüber dem homologen Pseudodiphtherieserum und dem heterologen Diphtherieserum kaum ein Unterschied feststellbar, ja manchmal ist, so z. B. bei dem Pseudodiphtheriebazillenstamm 413, die Reaktion gegenüber dem heterologen Diphtherieserum noch stärker als gegenüber dem homologen Pseudodiphtherieserum. Bemerkenswert erscheint noch die Tatsache, daß einige Pseudodiphtheriebazillenstämme (757, 765, 566, 1717) nur sehr schwach komplementbindende Antigene liefern.

Aus dieser Beobachtung geht hervor, daß wohl mittels der Komplementbindungsreaktion eine Trennung von Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen möglich ist. Doch weist der gleiche Reaktionsausfall der Komplementbindung der homologen Seren gegenüber den heterologen in den niederen Verdünnungen daraufhin, daß doch auch noch eine antigene Verwandtschaft dieser beiden Bazillengruppen besteht. Das Ergebnis der serologischen Vergleichsuntersuchungen von Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen mittels Komplementbindung spricht also nicht gegen die Möglichkeit einer Umwandlung von Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen, reicht aber auch nicht als Beweis dafür aus.

Die Prüfung der aus den Rachenabstrichen von 1750 Schulkindern reingezüchteten Corynebakterien ließ bei keinem Stamm und nach keinem der angewandten Verfahren erkennen, daß die gefundenen Keime ursprünglich echte Diphtheriebazillen waren, oder daß eine Umwandlung in solche befürchtet zu werden brauchte.

II. Untersuchungen auf gramfreie Rachenkokken.

Die genaue Differenzierung dieser Keimarten erfolgte nach der Reinzüchtung von der Originalabstrichplatte. Für die Diagnosestellung war maßgebend die Gramfärbung, das mikroskopische und kulturelle Aussehen, die Konsistenz und Verreibbarkeit der Kolonien, die Wachstumsfähigkeit auf gewöhnlichem Agar und das Zuckervergärungsvermögen in den von Lingelsheimschen Nährböden (Dextrose, Maltose, Lävulose, Saccharose). In sämtlichen 1750 Abstrichen fanden sich nicht einmal Meningokokken. Diese Erscheinung ist wahrscheinlich auf die in Marburg im Gegensatz zu anderen größeren Städten besseren Gesundheitsverhältnisse zurückzuführen. Seit 5 Jahren ist in Marburg kein Fall von epidemischer Meningitis beobachtet worden. Gramfreie Rachenkokken ließen sich bei 1550 in Normalzeiten untersuchten Kindern in 3,16 Proz. der Fälle feststellen. Bei 200 Kindern, die in der Grippezeit untersucht wurden, fanden sich in 3,5 Proz. der Fälle gramfreie Kokken im Rachenabstrich. Im ganzen waren also bei 1750 Gesamtuntersuchungen in 3,2 Proz. der Fälle gramfreie Kokken nachweisbar. Unter den im ganzen gefundenen 55 Stämmen gramfreier Rachenkokken waren 18 dem Micrococcus catarrhalis, 10 dem Micrococcus flavus, 3 dem Micrococcus pharyngis siccus, 24 dem Diplococcus crassus zuzurechnen.

Die in der Literatur vorhandenen Angaben über Meningokokkenträgertum zeigen sehr oft große Schwankungen in der Häufigkeit dieser Keime, die vor allem davon abhängen, ob die Untersuchungen in der Epidemiezeit und in der Umgebung von Erkrankten oder in epidemiefreien Zeiten ausgeführt wurden. So fanden während einer Meningokokkenepidemie bei der Durchuntersuchung gesunder, nicht in Beziehung zu Erkrankten stehender Personen Ostermann 74 Proz., Bruns und Hohn 32,4 Proz., Gellner 35 Proz., Olitzky 24,6 Proz., Gassner 5,8 bzw. 7,9 Proz., Fromme und Hancken 10 Proz., Trautmann und Fromme 9,2 Proz., Feser 0,03 Proz. Meningokokkenträger. Bei Umgebungsuntersuchungen von gesunden Personen, die in Kontakt mit Erkrankten standen, wurden gewöhnlich Zahlen gefunden, die nicht viel höher sind: Gellner 42,5 Proz., Küster 50—60 Proz., von Lingelsheim 15 Proz. Die bei Untersuchungen vollkommen gesunder Personen in epidemiefreien Zeiten ermittelte Trägerrate schwankt zwischen 0 Proz. (Fromme und Hancken, Davis) und 25 Proz. (Zeißler und Riedel). Mayer, Waldmann, Fürst, Gruber geben 1,37 Proz., Flu 1,8 Proz., Osler 2 Proz., Hübner und Kutscher 2 Proz., Eastwood 11 Proz. Meningokokkenträger in epidemiefreien Zeiten an.

Die in der Grippeperiode von mir vorgenommenen Untersuchungen ergaben, daß die gramfreien Rachenkokken ebenso wie die Corynebakterien in dieser Zeit keine Vermehrung erfahren. Die während der Grippe gefundenen 7 gramfreien Kokkenstämme gehörten sämtlich der Gruppe des Diplococcus crassus an; im Gegensatz zu Besançon und Bihler, die in fast allen bzw.

51 Proz. der Grippefälle den Micrococcus catarrhalis fanden. Auffallend war es wiederum, daß die gramfreien Rachenkokken ebenso wie die Corynebakterien erst im Höhepunkt bzw. im Abfall der Grippeepidemie auftraten.

Der Vergleich von vollkommen gesunden Kindern und solchen mit Tonsillenhypertrophie ergibt bezüglich der gramfreien Rachenkokken keinen Unterschied. Hinsichtlich der Meningokokken betont Jötten, daß die Hypertrophie der lymphatischen Rachenorgane keine Disposition zur vermehrten Ansiedlung dieser Keime schafft. Westenhoeffer glaubt dagegen auf Grund seiner allerdings nur geringzahligen Sektionsergebnisse bei Individuen mit lymphatischer Konstitution eine Disposition für das Meningokokkenträgertum annehmen zu dürfen. Ich fand bei meinen Untersuchungen unter 1550 Abstrichen in 3,16 Proz. der Fälle gramfreie Rachenkokken bei gesunden Kindern und in 3,13 Proz. der Fälle bei Kindern mit Tonsillenhypertrophie; es ist also hiernach keine Erhöhung der gramfreien Kokkenzahl bei Tonsillenhypertrophikern festzustellen. Die Prüfung der aus Rachenabstrichen von 1750 Schulkindern reingezüchteten gramfreien Kokken bietet also keinerlei Anhaltspunkte dafür, daß mit einer Pathogenität bzw. der Möglichkeit des Pathogenwerdens dieser Keime zu rechnen ist.

III. Untersuchungen auf hämolytische Streptokokken.

Bei meinen Streptokokkenuntersuchungen habe ich die vergrünenden Streptokokken nicht besonders beachtet, da sie fast in jedem Abstrich enthalten waren. Für die Diagnose war entscheidend das Verhalten auf der Blutplatte und in der Bouillonkultur, das mikroskopische Bild und das Verhalten in den bei der Streptokokkendiagnose üblichen Differenzialnährböden Lackmusmilch, Gallelackmusmilchzuckerbouillon und Aeskulinbouillon. Wie aus Tabelle II hervorgeht, habe ich bei den in Normalzeiten untersuchten 1550 Kindern in 60 = 3,83 Proz. der Fälle hämolytische Streptokokken nachgewiesen. Diese Zahl deckt sich ungefähr mit der von Wohlfeil und Jaffe für die bei Bonner Schulkindern im Monat Juli an einem allerdings sehr viel kleineren Material ermittelten niedrigsten Prozentsatz von Trägern hämolytischer Streptokokken.

Tabelle II.

Ergebnisse der Rachenabstrichuntersuchungen von 1550 Schulkindern in Normalzeiten. Dezember 1931 bis Februar 1932.

Art der Bakterien	Absolute Zahl der Befunde	Prozentzahl der Befunde
Diphtheriebazillen	1	0,06
Pseudodiphtheriebazillen	39	2,51
Meningokokken	0	0,00
Gramnegative Kokken	49	3,16
Hämolytische Streptokokken . .	60	3,83

Der Vergleich von gesunden Bazillenträgern Bonns mit denen anderer Städte ergibt bei letzteren viel höhere Zahlen: Königsberg 10,4 Proz. (September), Pirmasens 36,0 Proz. (Oktober-November). Andere Autoren erhielten bei ihren Untersuchungen gesunder Schulkinder ähnliche Werte: Gundel und Linden 11,6 Proz. (als Jahresdurchschnitt), Clawson fand 37,0 Proz., Ito sogar 40,0 Proz. gesunde Bazillenträger. Bei vergleichenden Untersuchungen von gesunden und an Grippe, Erkältungskrankheiten und Anginen erkrankten Personen stellten einige Autoren ein Ansteigen der Prozentzahlen der Befunde hämolytischer Streptokokken fest: Williams, Nevin und Gurley von 6 Proz. auf 16 Proz.; Reichenmiller von 9 Proz. auf 26 Proz.; Bürgers von 12,5 Proz.

Tabelle III.

Vergleich der Rachenflora bei 1275 Normalkindern und 275 tonsillenhypertrophischen Kindern.

Art der Bakterien	1275 Normalkinder		275 tonsillenhypertrophische Kinder	
	Absolute Zahl der Befunde	Prozentzahl der Befunde	Absolute Zahl der Befunde	Prozentzahl der Befunde
Diphthieriebazillen	0	0,00	1	0,36
Pseudodiphtheriebazillen	29	2,27	10	3,63
Meningokokken . .	0	0,00	0	0,00
Gramnegative Kokken	40	3,13	9	3,24
Hämolytische Streptokokken .	51	4,00	9	3,24

auf 30 Proz.; Bloomfield und Felty von 17 Proz. auf 30 Proz. Einen vorübergehenden rapiden prozentualen Anstieg der hämolytischen Streptokokkenbefunde von 8,9 Proz. auf 14,2 Proz. fand Bürgers während einer Grippe im Januar-Februar.

Auch ich konnte einen ganz bedeutenden Anstieg der hämolytischen Streptokokken infolge der Marburger Grippeepidemie im Januar-März 1933 feststellen. Von den in dieser Zeit untersuchten 200 Rachenabstrichen ließen sich bei 56 von 200 Schulkindern, also in 29,4 Proz. der Fälle hämolytische Streptokokken nachweisen. Der Anstieg der hämolytischen Streptokokkenbefunde der Grippezeit kommt noch viel deutlicher zum Ausdruck, wenn man das Verhältnis der Zahl der Fälle, in denen hämolytische Streptokokken nachgewiesen wurden, zu der Gesamtzahl der Untersuchungen eines jeden Untersuchungstages berechnet (Tabelle IV). Hierbei ist ein Ansteigen der hämolytischen Streptokokken bis zu 66 Proz. der untersuchten Fälle nachzuweisen. Es ist möglich, daß die Zahl der hämolytischen Streptokokkenträger noch höher gefunden worden wäre, wenn ich nicht durch die wegen der Grippe vom 2.—10. Februar erfolgte Schulschließung meine Untersuchungen hätte unterbrechen müssen.

Tabelle IV.

Keimbefunde während der Grippe 1933.

Datum	Zahl der Untersuchungen	Hämolytische Streptokokken		Corynebakterien	Gramfreie Kokken
		Abs. Zahl	Prozentzahl		
27. 1.	18	7	38,02	—	—
30. 1.	21	8	38,85	—	—
1. 2.	18	12	66,60	—	—
13. 2.	24	6	24,96	—	—
21. 2.	21	5	23,85	+	+
24. 2.	24	3	12,48	—	+
28. 2.	22	3	13,62	—	—
7. 3.	28	6	21,42	+	+
14. 3.	24	6	25,00	+	—
	200	56	29,42	5	7

Bei den Corynebakterien und gramfreien Kokken ist nicht die absolute Zahl angegeben worden, da diese zu gering war, und nur das Verschwinden bzw. Wiederauftreten dieser Keime dargestellt werden sollte.

In Abbildung 1 ist weiterhin noch eine Kurve dargestellt, welche die Prozentzahl der wöchentlichen Krankmeldungen der Marburger Allgemeinen Ortskrankenkasse (Stadt und Land) während der Grippezeit wiedergibt. Da der Anstieg der Erkrankungsfälle zu jener Zeit fat ganz auf Grippeerkrankungen zurückzuführen ist, gibt diese Kurve ein getreues Abbild des Grippeepidemieverlaufs. Der Vergleich der beiden Kurven ergibt, daß der Anstieg der Prozentzahlen der Befunde hämolytischer Streptokokken vor dem Ansteigen der Krankmeldungen erfolgt und mit der Grippekurve ungefähr parallel läuft. Der Abfall der Häufigkeitskurve der hämolytischen Streptokokken ist dagegen kurz vor Erreichung des Höhepunktes der Epidemie festzustellen. Diese Erscheinung läßt sich vielleicht so erklären, daß mit dem Ausbruch der Allgemeinerkrankung die Streptokokken bereits aus dem Nasenrachenraum wieder zu verschwinden beginnen. Doch ist zu bedenken, daß die Grippehäufigkeitskurve allein auf Grund von Krankmeldungen erwachsener Personen zusammengestellt ist und daß die Durchseuchungsverhältnisse bei Schulkindern und Erwachsenen nicht ganz gleich zu verlaufen brauchen. Ferner wäre es möglich, daß der Unterschied der beiden Kurven darauf zurückzuführen ist, daß die Durchseuchung der Schulkinder von dem Beginn der Schulschließung, also der ersten Februarwoche ab, keine weiteren Fortschritte gemacht hat. Auch während des Abflauens der Grippeepidemie war noch eine beträchtliche Erhöhung der Zahl (um ungefähr das 6—8fache) von hämolytischen Streptokokkenträgern über die Norm zu verzeichnen.

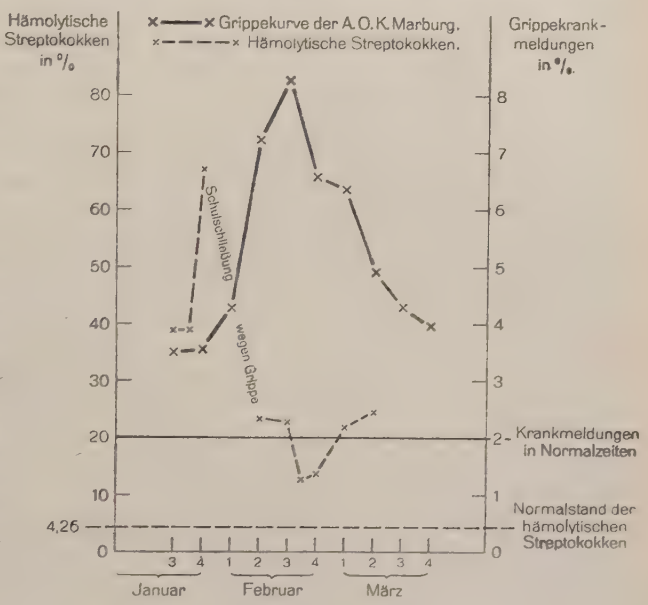

Abb. 1.

Bei der Prüfung der aus den Rachenabstrichen reingezüchteten hämolytischen Streptokokkenstämme in den oben genannten Streptokokkendifferentialnährböden fiel es auf, daß einige Stämme von dem typischen Verhalten hämolytischer Streptokokken abwichen. So fanden sich unter insgesamt 116 hämolytischen Streptokokken 15 Stämme, die in den Differentialnährböden ganz das Verhalten der Enterokokken zeigten. Sie spalteten Aeskulin und erzeugten in der Lackmusmilch mit Ausnahme von 3 Stämmen eine Reduktion des Lackmusfarbstoffes, veranlaßten eine Gerinnung der Milch unter ringförmiger Rötung der Oberschicht und wuchsen in der Gallelackmusmilchzuckerbouillon unter Rötung und starker Trübung des Nährbodens. Besonders auffallend war es, daß diese Stämme, die auch schon in Normalzeiten nachweisbar waren, während des Anstieges der Grippeepidemie vermehrt auf-

traten. Während sie in Normalzeiten 17 Proz. sämtlicher gefundener hämolytischer Streptokokkenstämme ausmachten, war ihr prozentualer Anteil unter den übrigen hämolytischen Streptokokkenstämmen im Anstieg der Grippeepidemie (4. Januarwoche bis 1. Februarwoche) auf mehr als das Doppelte, also um 40 Proz. gestiegen.

Ueber das Vorkommen derartiger hämolytischer Streptokokken, die das kulturelle Verhalten von Enterokokken zeigen, ist von verschiedener Seite berichtet worden. Es wird stets die Seltenheit dieser Keime hervorgehoben. So fand Mayer unter 300 kulturell untersuchten 9 (3,33 Proz.) derartige Varianten. Die von mir beobachtete starke Vermehrung dieser Stämme in der Grippezeit könnte so gedeutet werden, daß die schon normalerweise in der Mundhöhle vorhandenen in ihrem kulturellen Verhalten den Enterokokken vollkommen gleichenden Milchsäurestreptokokken (Gundel) unter dem Einfluß der Grippeerkrankung ihres Wirtsorganismus vorübergehend hämolytisch werden. Auch Bürgers betont, daß die Hämolyse keine Dauereigenschaft einer Streptokokkenart sei, sondern eine Fähigkeit, die unter besonderen Umständen — Bürgers denkt an die bei lokaler Abkühlung (Erkältung) eintretende Hyperämie und Absonderung von Serum — erworben werden und wieder verloren gehen kann. Auch die zahlreichen auf experimentellem Wege im Bereich der Streptokokkengruppe erzielten Umwandlungen (Morgenrothsche Schule, Kuszynski und Wolff, Hintze und Kühne usw.) sowie die im Körper des erkrankten Menschen beobachteten Veränderungen von Streptokokkentypen (Krottmayer-Antoni, Tobler-Tomarkin-Hauswirth usw.) sprechen für diese Annahme. Der von mir in einigen Fällen beobachtete schnelle Hämolyseverlust dieser Stämme (oft schon bei der zweiten Blutplattenpassage) wäre im selben Sinne zu deuten.

Die übrigen 101 hämolytischen Streptokokkenstämme zeigten ebenfalls nicht sämtlich das für diese Bakterienarten typische Verhalten in den Differentialnährnöden. 35 Stämme verursachten eine deutliche Trübung der gewöhnlichen Bouillon, durch 69 Stämme wurde die Lackmusmilch gerötet, 19 Stämme brachten sie zur Gerinnung, 8 Stämme veranlaßten in der Gallelackmusmilchzuckerbouillon eine stärkere Trübung, und 53 Stämme Rötung. Diese Befunde bewiesen wiederum die außerordentlich starke kulturelle Variationsbereitschaft der Streptokokken, auf die A. Beck und J. Braun erneut hingewiesen haben.

Der Vergleich der Prozentzahlen von hämolytischen Streptokokken bei vollkommen gesunden 1275 Kindern und bei 275 Kindern mit chronischer Tonsillenhypertrophie ergab in Normalzeiten keinen wesentlichen Unterschied. Bei den tonsillenhypertrophischen fanden sich sogar etwas weniger (3,24 Proz.) als bei den gesunden Kontrollkindern (4 Proz.). Es ist möglich, daß diese Verhältnisse in Grippezeiten eine wesentliche Aenderung erfahren; mein Untersuchungsmaterial an tonsillenhypertrophischen Kindern während der von mir beobachteten Grippeepidemie ist zu gering, um einen Vergleich mit Normalkindern anzustellen. Da sich meine Untersuchungen nicht auf klinische Beobachtungen erstreckten, kann ich auch keine Aussagen über eine etwaige stärkere Beteiligung der tonsillenhypertrophischen Kinder an der Zahl der Grippeerkrankungen machen.

Besprechung der Ergebnisse.

Die Gesamtergebnisse meiner Untersuchungen der Rachenabstriche von 1750 Marburger Schulkindern sind in den Tabellen II—IV zusammengefaßt. Tabelle II zeigt eine in Normalzeiten verhältnismäßig sehr geringe Häufigkeit pathogener oder diesen verwandter Keime, die auf einen durchschnittlich guten

Gesundheitszustand der Marburger Schulkinder schließen läßt. In Tabelle III sind die Untersuchungsbefunde der Rachenabstriche normaler und tonsillenhypertrophischer Kinder gegenübergestellt. Es ergibt sich, daß zwischen beiden Kategorien keine Unterschiede in der Keimflora bestehen. Die geringen Abweichungen der Prozentzahlen dürften innerhalb der Fehlergrenzen liegen, die durch die verhältnismäßig geringe Zahl der Untersuchungen bedingt sind. Die in Tabelle IV wiedergegebenen Keimbefunde während einer Grippeepidemie zeigen zwar einen deutlichen Anstieg der Feststellungen hämolytischer Streptokokken, der bereits oben näher erörtert wurde. Mit der Vermehrung dieser Keime kommt es jedoch zu einem vorübergehenden Verschwinden der Corynebakterien und der gramfreien Kokken. Es hat den Anschein, als ob die hämolytischen Streptokokken in der Zeit ihres starken Anstieges die übrigen Keime verdrängten. Eine derartige Zurückdrängung von Diphtheriebazillen durch Streptokokken konnte Adachi in Kulturversuchen nachweisen. Dieser Antagonismus ist um so sonderbarer, als sonst gerade die schweren toxischen Diphtherieerkrankungen auf eine Mitbeteiligung von hämolytischen Streptokokken zurückgeführt werden. Auch Wohlfeil und Jaffe glauben auf Grund ihrer Untersuchungen, daß nicht nur in der Häufigkeit des Vorkommens von hämolytischen Streptokokken und Corynebakterien, sondern auch in der Häufigkeit des Vorkommens von Streptokokken und gramfreien Kokken entgegengesetzte Beziehungen bestehen. Aus meinen Untersuchungen dürfte hervorgehen, daß die apathogenen Corynebakterien und gramfreien Kokken während Grippezeiten jedenfalls keine Pathogenität erlangen, während eine derartige Veränderung bei den in Rachenabstrichen zu findenden Streptokokken doch äußerst wahrscheinlich ist. Weiterhin kann aus den Untersuchungen der Rachenflora bei 1750 Schulkindern der Schluß gezogen werden, daß die gefundenen Corynebakterien und gramfreien Kokken nicht abgewandelte Formen ehemals pathogener Keime darstellen und deshalb auch wohl kaum Anlaß zum Ausbruch von Epidemien zu geben imstande sind.

Zusammenfassung.

1) Bei der Untersuchung von 1750 Schulkindern konnte nur ein Träger eines avirulenten Diphtheriebazillenstammes festgestellt werden. In 2,5 Proz. der Fälle fanden sich Pseudodiphtheriebazillen.

2) Weder durch wiederholte Züchtungen auf hochprozentigen Blutplatten noch durch mehrfache Passage im Tierkörper gelang es, die Pseudodiphtheriebazillen und den avirulenten Diphtheriebazillenstamm in virulente Diphtheriebazillen umzuwandeln.

3) In der Komplementbindungsreaktion verhalten sich die Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen nur in geringem Maße unterschiedlich.

4) Unter sämtlichen untersuchten Schulkindern wurde kein einziger Meningokokkenträger ermittelt. Dagegen fanden sich in 3,2 Proz. der Fälle gramfreie Rachenkokken.

5) Bei 1550 in Normalzeiten untersuchten Kindern wurden in 3,8 Proz. der Fälle hämolytische Streptokokken gefunden. Während der Grippe kommt es unter Zurücktreten der Corynebakterien und gramfreien Kokken zu einem Anstieg dieser Keime bis auf 66 Proz. der untersuchten Fälle. Der Anstieg der Befunde hämolytischer Streptokokken läuft dem Anstieg der Grippekurve voraus, mit dieser jedoch zunächst annähernd parallel. Der Abfall der Befunde

hämolytischer Streptokokken tritt bereits vor der Erreichung des Höhepunktes der Grippemorbidität ein.

6) Unter 116 gefundenen hämolytischen Streptokokkenstämmen zeigten 15 in den Streptokokkendifferentialnährböden das typische kulturelle Verhalten von Enterokokken. Diese Stämme fanden sich besonders gehäuft im Anstieg der Grippeepidemie. Es wird die Möglichkeit erwogen, daß es sich bei ihnen um vorübergehend hämolytisch gewordene Mund-Milchsäurestreptokokken handelt.

Zum Schlusse meiner Arbeit spreche ich Herrn Professor Dr. W. Pfannenstiel für die Ueberlassung des Themas und Herrn Dr. A. Beck für die wertvolle Unterstützung bei der Ausführung der Arbeit meinen aufrichtigen Dank aus.

Literaturnachweis.

1) Adachi, s. Löwenthal u. Zurukzoglu, Kolle-Wassermann **5**/ 2 (1928). — 2) Baerthlein, Zbl. Bakter. I Ref. **57**, 89 (1913). — 3) Beck, Zbl. Bakter. I Orig. (im Druck). — Ders., Ebenda **125**, 385 (1932). — 4) Beckler, Gillette, Parker, s. Markuse. — 5) Bell, J. roy. qmer. med. Corps **38** (1922). — 6) Besançon, Zbl. Bakter. I Ref. **28**, 21 — 7) Bessemans, de Potter et Deckers, Ebenda **88**, 486 (1928). — 8) Bihler, Dtsch. med. Wschr. **1931**, 2177. — 9) Bloomfield u. Felty, Bull. Hopkins Hosp. **34**, Nr 394, 414 (1923). — 10) Bruns u. Hohn, s. Jötten, Kolle-Wassermann **4**/ 2, 618 (1928). — 11) Bull, McKee, Clara, M., Zbl. Bakter. I Ref. **77**, 243 (1924). — 12) Burckhardt u. Enriquez, Zbl. Bakter. I Orig. **80**, 15 (1918). — 13) Bürgers, Klin. Wschr. **1928 I**, 293 389. — 14) Clawson, s. Reichenmiller, Münch. med. Wschr. **1926**. — 15) Davis, Zbl. Bakter. I Ref. **42**, 745. — 16) Doull u. Fales, Amer. I. Hyg. **3**, 604 (1923). — 17) Dudley, Zbl. Bakter. I Ref. **108**, 532. — 18) Durand, Zbl. Bakter. I Orig. **72**, 296 (1921). 19) Eagleton u. Baxter, Zbl. Hyg. **7**, 114 (1924). — 20) Feser, Dtsch. med. Wschr. **1915**, 1023. — 21) Flu, s. Jötten, Kolle-Wassermann **4**/ 2, 618 (1928). — 22) Fromme u. Hancken, Z. Hyg. **82**, 243. — 23) Gassner, Zbl. Hyg. **84**, 279 (1917). — 24) Gellner, Zbl. Bakter. I Ref. **82**, 535 (1926). — 25) Gins, Zbl. Bakter. I Orig. **99**, 243 (1926). — 26) Gundel, Ebenda **99**, 496 (1926). — 27) Ders. u. Linden, Ebenda **121**, 349 (1931). — 28) Gundel u. Witebsky, Z. Immun.forschg **66**, 45 (1930). — 29) Havens, J. inf. Dis. **26** (1920). — 30) Hintze u. Kühne, Zbl. Bakter. I Orig. **88**, 352 (1922). — 31) Hübner u. Kutscher, Dtsch. med. Wschr. **1906 II**, 1071; s. Jötten, Kolle-Wassermann **4**/ 2. — 32) Ito, s. Reichenmiller, Münch. med. Wschr. **1926**. — 33) Jötten, Kolle-Wassermann **4**/2, 618 (1928). — Ders., Arch. f. Hyg. **94**, 174 (1924). — 34) Kliewe, Zbl. Bakter. I Orig. **101**, 6, 44, 199 (1927). — 35) Klinger u. Schoch, Ebenda **78**, 300 (1916). — 36) Knight u. Hewlett, Trans. of Jenner Just. **1897**. — 37) Kober, s. Markuse, Z. Hyg. **112**. — 38) Krah u. Witebsky, Z. Immun.forschg **66**, 59 (1930). — 39) Krottmeyer-Antoni, Zbl. Bakter. I Orig. **121** (1931). — 40) Kuszynski u. Wolff, Berl. klin. Wschr. **1921**, 794. — 41) Küster, Münch. med.Wschr. **1906**, 956. — 42) Langer, Zbl. Bakter. I Orig. **78**, 117 (1916). — 43) Lubowski, Z. Hyg. **35**, 87 (1900). — 44) von Lingelsheim, Zbl. Bakter. **59** (1908). — 45) Mansheim, Ebenda **115**, 113 (1930). — 46) Markuse, Z. Hyg. **112**, 270 (1931). — 47) Mayer, Zbl. Bakter. I Orig. **99**, 402, 416 (1926). — 48) Ders., Waldmann, Fürst u. Gruber, Ebenda **47**, 213. — 49) Möhrke, Ebenda **100**, 145 (1926). — 50) Morgenroth, Schnitzer, Dtsch. med. Wschr. **1926**, 2. — 51) Morse, Zbl. Bakter. I Ref. **59**, 231 (1914). — 52) Olitzky, s. Jötten, Kolle-Wassermann **4**/ 2. — 53) Osler, s. Jötten, Kolle-Wassermann **4**/ 2. — 54) Ostermann, Dtsch. med. Wschr. **1906**, 414. — 55) Pennington, Zbl. Bakter. I Ref. **42**, 655. — 56) Powell, Amer. J. Hyg. **3** (1923). — 57) Preidt, Zbl. Bakter. I Ref. **108**, 533. — 58) Reichenmiller, Münch. med. Wschr. **1926**, 2117. — 59) van Riemsdijk, Zbl. Bakter. I Orig. **75**, 225. — 60) Roux u. Yersin, Ann. Inst. Pasteur **4** (1899). — 61) Scharlau, B., Zbl. Bakter. I Orig. **123**, 302 (1931). — 62) Schmitz, Ebenda **77**, 403 (1916). — 63) Schneider, Ebenda **121**, 213 (1931). — 64) Schwoner, Ebenda **35**, 608 (1904). — 65) Scott, Zbl. Hyg. **6** (1924). — 66) Smith, Ebenda **7**, 114 (1924). — 67) Tobler, Tomarkin, Hauswirth, Zbl. Bakter. I Orig. **110**, 60. — 68) Trautmann u. Fromme, Münch. med. Wschr. **1908**, 791. — 69) Trumpp, Ebenda Abt. Orig. **1896**. — 70) Weichardt u. Schrader, Münch. med. Wschr. **1919**, 289. — 71) Westenhöfer, Berl. klin. Wschr. **1905**, 737. — 72) Williams, Nevins u. Gurley, s. Löwenthal u. Zurukzoglu, Kolle-Wassermann **5**/2, 1290 (1928). — 73) Wohlfeil u. Jaffe, Zbl. Hyg. **112**, 46 (1931). — 74) Zeißler u. Riedel, s. Jötten, Kolle-Wassermann **4**/ 2, 618 (1928).

Lebenslauf.

Am 6. November 1908 wurde ich als Tochter des Betriebsingenieurs Ernst Stein in Dahlerau/Wupper geboren. Ostern 1915 trat ich in die Volksschule zu Dahlhausen/Wupper ein. Von Ostern 1919 ab besuchte ich die Städtische Höhere Mädchenschule zu Lennep bis zur Sekundareife. Zur Vorbereitung auf das Abitur bezog ich 1926 das Realgymnasium zu Lennep und legte dort Ostern 1929 meine Reifeprüfung ab. Anschließend widmete ich mich dem Studium der Zahnheilkunde an der Friedrich-Wilhelms-Universität zu Bonn. Im November 1930 bestand ich in Bonn die zahnärztliche Vorprüfung. Nach meinem fünften Studiensemester wechselte ich die Universität und beendete in Marburg mein Studium mit der zahnärztlichen Staatsprüfung im Januar 1933.

Meine akademischen Lehrer waren

in Bonn:

Bachem, Balters, Ceelen, Fuß, Kantorowicz, Konen, Labes, Lauche, Pfeiffer, Schmidhuber, Slauk, Sobotta, Stöhr, Thielemann, Thörner.

in Marburg:

Arndt, Baur, Bömінghaus, Eimer, Loebell, Kunzendorf, Pfannenstiel, von Reckow, Schubert, Seidel, Versé, Wiedhopf.

Marburg, im Juli 1933.

Carola Stein.